

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re New Patent Application of)
Shinji SUZUKI)
Application No. Not yet assigned) Attn: Applications
Filed: On even date) Branch
For: PROCESS FOR PRODUCING A FILM FOR)
CONTROLLING THE CHEMOTACTIC)
FUNCTION AND AN ARTIFICIAL MATERIAL)
AND PROCESS FOR PRODUCING THE)
ARTIFICIAL MATERIAL) Date: March 18, 2004

CLAIM FOR CONVENTION PRIORITY

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

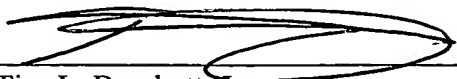
The benefit of the filing date of the following prior foreign application in the following foreign country is hereby requested, and the right of priority provided in 35 U.S.C. § 119 is hereby claimed:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NO.</u>	<u>MONTH/DAY/YEAR</u>
Japan	2003-078056	March 20, 2003

In support of this claim, enclosed is a certified copy of said prior foreign application. Acknowledgment of receipt of this certified copy is requested.

Respectfully submitted,

By:


Tim L. Brackett, Jr.
Registration No. 36,092

NIXON PEABODY LLP
401 9th Street, N.W.
Suite 900
Washington, DC 20004-2128
Telephone: (703) 827-8094

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 3 月 2 0 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 0 7 8 0 5 6
Application Number:

[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 0 7 8 0 5 6]

出 願 人 ウ シ オ 電 機 株 式 有 限 公 司
Applicant(s):

2 0 0 3 年 1 2 月 1 9 日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康



【書類名】 特許願

【整理番号】 030015

【提出日】 平成15年 3月20日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12M 1/00

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市青葉区美しが丘5丁目14番6はづきビル1階 ウシオ電機株式会社内

【氏名】 鈴木 信二

【特許出願人】

【識別番号】 000102212

【氏名又は名称】 ウシオ電機株式会社

【代理人】

【識別番号】 100078754

【弁理士】

【氏名又は名称】 大井 正彦

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015196

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9719171

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 化学走性機能制御膜の製造方法および人工材料並びに人工材料の製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 酸素またはオゾンを含有する雰囲気中において、化学走性因子物質よりなる化学走性因子物質膜に対して、光源からの放射光を、その照射量が化学走性因子物質膜の照射対象領域において一方向に連続的に変化するよう照射して化学走性因子物質を変質させることにより、光源からの放射光の照射量に変化されてなる一方向において、化学走性因子物質が当該照射量に基づいた濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を得ることを特徴とする化学走性機能制御膜の製造方法。

【請求項 2】 化学走性因子物質膜と、当該化学走性因子物質膜の上方に配置された光源との間の領域に遮光板を配置し、

この遮光板と化学走性因子物質膜との位置関係を一方向に相対的に変化させながら化学走性因子物質膜の照射対象領域に光源からの放射光を照射することを特徴とする請求項 1 に記載の化学走性機能制御膜の製造方法。

【請求項 3】 化学走性因子物質膜と、当該化学走性因子物質膜の上方に配置された光源との間の領域に、透光率が一方向に連続的に変化する透光率変化領域を有するマスクを配置し、

光源からの放射光を透光率変化領域を有するマスクの当該透光率変化領域を介して化学走性因子物質膜の照射対象領域に照射することを特徴とする請求項 1 に記載の化学走性機能制御膜の製造方法。

【請求項 4】 光源が、化学走性因子物質を変質させる波長の光を放射するものであることを特徴とする請求項 1～請求項 3 のいずれかに記載の化学走性機能制御膜の製造方法。

【請求項 5】 請求項 1～請求項 4 のいずれかに記載の化学走性機能制御膜の製造方法によって得られる化学走性機能制御膜を基板上に有してなることを特徴とする人工材料。

【請求項 6】 基板の表面に形成された、化学走性因子物質を付着させる化

学走性因子物質付着性能を有する付着性物質よりなる付着性物質膜に対して、酸素またはオゾンを含む霧状雰囲気中において、光源からの放射光を、その照射量が当該付着性物質膜の照射対象領域において一方向に連続的に変化するよう照射して付着性物質を変質させることによって得られる下地処理膜の表面に、化学走性因子物質を含む溶液を塗布することにより、当該下地処理膜における光源からの放射光の照射量が変化されてなる一方向において、この下地処理膜に対する光源からの放射光の照射量に基づいた濃度勾配を有する状態で化学走性因子物質が存在する化学走性機能制御膜を形成し、当該化学走性機能制御膜を基板上に有してなる人工材料を得ることを特徴とする人工材料の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、化学走性因子物質よりなる薄膜であって当該化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態とされた化学走性機能制御膜を製造する方法および当該化学走性機能制御膜を基板上に有してなる人工材料並びに人工材料の製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、細胞の機能を制御することのできる人工材料を設計することは、精密な機能を有する生体材料の創成や、細胞機能の研究などに大きく貢献するものと考えられている。

人工材料の或る種のものとしては、細胞の成長因子物質や接着因子物質をガラスまたは高分子物質よりなる基板上に固定化したものが用いられており、このような構成の人工材料によって細胞の成長や分化を制御する研究が進められている。

【0003】

このような研究においては、例えばガラスまたは高分子物質よりなる基板上に、例えばインシュリンなどの化学走性因子物質を固定化した人工材料を作製し、この人工材料を用いて細胞の増殖、分化、移動等に係る実験が行われている（例

えば、非特許文献1参照。))。

【0004】

最新の研究によれば、化学走性因子物質よりなる薄膜上においては、細胞は化学走性因子物質を検知または取り込みながら化学走性因子物質濃度の高い方に移動すること、更に、このような細胞の挙動は、細胞自体の活性度に依存し、活性度の高い細胞ほど移動速度が大きく、活性度の低い細胞ほど移動速度が小さくなることが明らかとなってきた。

【0005】

而して、このような細胞の特性を利用して、細胞の活性度の確認を、細胞の移動速度を測定することによって行うことが検討されている。

しかしながら、細胞の移動速度を測定するためには、微小な領域内において実質的に連続して化学走性因子物質濃度が一方向に変化してなる薄膜が必要となるが、このような濃度勾配を有する薄膜を製造する方法は知られていない。

【0006】

【非特許文献1】

生理活性高分子の表面密度傾斜固定化による細胞機能制御，「ポリマー プレプリントス (Polymer Preprints)」，社団法人高分子学会，1999年9月20日，第48巻，第10号，p2411-2412

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、以上のような事情に基づいてなされたものであって、その目的は、微小な領域内においても、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を製造する方法を提供することにある。

本発明の他の目的は、微小な領域内においても、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を基板上に有してなる構成の人工材料および人工材料の製造方法を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明の化学走性機能制御膜の製造方法は、酸素またはオゾンを含有する雰囲気

気中において、化学走性因子物質よりなる化学走性因子物質膜に対して、光源からの放射光を、その照射量が化学走性因子物質膜の照射対象領域において一方向に連続的に変化するよう照射して化学走性因子物質を変質させることにより、光源からの放射光の照射量が変化されてなる一方向において、化学走性因子物質が当該照射量に基づいた濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を得ることを特徴とする。

【0009】

本発明の化学走性機能制御膜の製造方法においては、化学走性因子物質膜と、当該化学走性因子物質膜の上方に配置された光源との間の領域に遮光板を配置し、

この遮光板と化学走性因子物質膜との位置関係を一方向に相対的に変化させながら化学走性因子物質膜の照射対象領域に光源からの放射光を照射することを特徴とする。

【0010】

本発明の化学走性機能制御膜の製造方法においては、化学走性因子物質膜と、当該化学走性因子物質膜の上方に配置された光源との間の領域に、透光率が一方向に連続的に変化する透光率変化領域を有するマスクを配置し、

光源からの放射光を透光率変化領域を有するマスクの当該透光率変化領域を介して化学走性因子物質膜の照射対象領域に照射することを特徴とする。

【0011】

本発明の化学走性機能制御膜の製造方法においては、光源が、化学走性因子物質を変質させる波長の光を放射するものであることが好ましい。

【0012】

本発明の人工材料は、上記の化学走性機能制御膜の製造方法によって得られる化学走性機能制御膜を基板上に有してなることを特徴とする。

【0013】

本発明の人工材料の製造方法は、基板の表面に形成された、化学走性因子物質を付着させる化学走性因子物質付着性能を有する付着性物質よりなる付着性物質膜に対して、酸素またはオゾンを含有する雰囲気中において、光源からの放射光

を、その照射量が当該付着性物質膜の照射対象領域において一方向に連続的に変化するように照射して付着性物質を変質させることによって得られる下地処理膜の表面に、化学走性因子物質を含有する溶液を塗布することにより、当該下地処理膜における光源からの放射光の照射量が変化されてなる一方向において、この下地処理膜に対する光源からの放射光の照射量に基づいた濃度勾配を有する状態で化学走性因子物質が存在する化学走性機能制御膜を形成し、当該化学走性機能制御膜を基板上に有してなる人工材料を得ることを特徴とする。

【0014】

本明細書中において、「連続的に変化する」とは、一定の変化割合で傾斜的に連続して変化することのみでなく、変化割合が段階的に変化することを含む概念であり、実質的に連続して変化することを意味する。

【0015】

【作用】

本発明の化学走性機能制御膜の製造方法によれば、酸素またはオゾンを含む雰囲気中において、化学走性因子物質膜の照射対象領域に対して、その照射量が一方向に連続的に変化するように光源からの放射光を照射して当該照射対象領域における化学走性因子物質を変質させることにより、この照射対象領域内において、光源からの放射光の照射量が変化されてなる一方向に、当該照射量に基づいて実質的に連続して化学走性因子物質濃度を変化させることができることから、照射対象領域が微小な大きさであっても、この微小な領域内において、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を容易に得ることができる。

【0016】

本発明の人工材料の製造方法によれば、酸素またはオゾンを含む雰囲気中において、基板の表面に形成された付着性物質膜の照射対象領域に対して、その照射量が一方向に連続的に変化するように光源からの放射光を照射して当該照射対象領域における付着性物質を変質させることにより、この照射対象領域内において、光源からの放射光の照射量が変化されてなる一方向に、当該照射量に基づいて実質的に連続して付着性物質濃度に変化してなる下地処理膜を得ることができ

ると共に、この下地処理膜の表面に化学走性因子物質含有溶液を塗布することにより、下地処理膜における付着性物質濃度の変化状態に対応する変化状態で化学因子物質濃度が変化されてなる薄膜を形成することができることから、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を容易に得ることができる。

【0017】

【発明の実施の形態】

以下、本発明について詳細に説明する。

本発明の化学走性機能制御膜の製造方法は、細胞の化学走性機能を制御することのできる薄膜を形成するための方法であって、酸素またはオゾンを含む雰囲気中において、化学走性因子物質よりなる化学走性因子物質膜に対して、光源からの放射光を、その照射量が化学走性因子物質膜の照射対象領域において、一方向に連続的に変化するよう照射する工程を有するものである。

ここに、化学走性因子物質膜の照射対象領域は、制御対象の細胞（通常、外径 $10 \sim 30 \mu\text{m}$ の大きさを有する）よりも大きい寸法を有することが必要とされる。

【0018】

具体的に、化学走性因子物質膜の照射対象領域に光源からの放射光を照射する手法としては、下記（１）および（２）の手法が挙げられる。

【0019】

（１）化学走性因子物質膜と、当該化学走性因子物質膜の上方に配置された光源との間の領域に遮光板を配置し、この遮光板と化学走性因子物質膜との位置関係を一方向に相対的に変化させながら化学走性因子物質膜の照射対象領域に光源からの放射光を順次照射する手法（以下、「第１の手法」ともいう。）

（２）化学走性因子物質膜と、当該化学走性因子物質膜の上方に配置された光源との間の領域に、透光率が一方向に連続的に変化する透光率変化領域を有するマスク（以下、「特定のマスク」ともいう。）を配置し、光源からの放射光を特定のマスクの透光率変化領域を介して化学走性因子物質膜の照射対象領域に照射する手法（以下、「第２の手法」ともいう。）

【0020】

化学走性因子物質は、化学走性機能を有する細胞の化学走性の発現の刺激源となる化学物質であり、具体的には、例えばインシュリン、アスパラギン酸、3', 5'-サイクリック cAMP (3',5'-cyclic adenosine monophosphate) などが挙げられる。

【0021】

以下、第1の手法および第2の手法の各々による化学走性機能制御膜の製造方法について詳細に説明する。

【0022】

<第1の手法に係る化学走性機能制御膜の製造方法>

先ず、図1に示すように、例えばガラス製の基板11の表面（図1において上面）に、化学走性因子物質を含有する化学走性因子物質含有溶液を塗布し、乾燥させることによって薄膜状の化学走性因子物質膜14を形成する。

次いで、基板11上に形成された化学走性因子物質膜14の上方（図2において上方）に、光源（図示せず）を配置すると共に、例えば石英ガラス製の基板18（図2において下面）の大部分（図2において左方大部分）に、例えばクロム蒸着膜19が形成されてなる遮光部17Aを有する遮光板17を用意し、化学走性因子物質膜14と光源との間に形成された領域21の所定の位置に配置する。

この例においては、図2に示すように、化学走性因子物質膜14の表面（図2において上面）全域が照射対象領域15とされており、また、遮光板17は、化学走性因子物質膜14に平行であって、例えば当該化学走性因子物質膜14から50 μ m 離間した位置において、遮光部17Aによって光源からの放射光を照射対象領域15全域において遮断する状態に配置されている。

【0023】

そして、図3に示すように、例えば大気中などの酸素またはオゾンを含有する雰囲気中において、光源を、例えば放射光の照度が5 mW/cm² となる条件で点灯状態とすると共に、遮光板17を、例えば5 μ m/秒の一定速度で化学走性因子物質膜14の照射対象領域15における一端（図3において右端）15Aから他端（図3において左端）15Bに向かう方向（図3において左方向）に移動

させながら、光源からの放射光を照射対象領域 15 に対して一端 15 A 側から順次照射することによって放射光が照射される領域を次第に拡大させ、最終的には照射対象領域 15 全域に光源からの放射光を照射する（図 4 参照）。

【0024】

このようにして、照射対象領域 15 全域における照度分布が均一となる条件下において、照射対象領域 15 の一端 15 A 側から他端 15 B 側に向かうに従って次第に照射時間を小さくし、光源からの放射光の照射対象領域 15 における照射量を、一端 15 A から他端 15 B に向かう一方向に連続的に小さくなるよう変化させることにより、後述するように、図 4 に示すような一端 30 A から他端 30 B に向かうに従って化学走性因子物質濃度が大きくなる濃度勾配を有する化学走性機能制御膜 30 が形成される。

図 4 において、化学走性機能制御膜 30 は、その表面（図 4 において上面）が傾斜した状態に描かれているが、この表面の傾斜状態は、一端 30 A から他端 30 B に向かうに従って化学走性因子物質濃度が大きくなっている濃度勾配を便宜上厚みの変化として示すものである。

【0025】

化学走性因子物質含有溶液としては、例えばアルコール、水などの溶媒中に、化学走性因子物質を溶解させてなるものを用いることができる。

また、化学走性因子物質含有溶液には、得られる化学走性機能制御膜 30 の制御機能に弊害を伴わない範囲内においてバインダーが含有されていてもよい。

【0026】

化学走性因子物質膜 14 の厚さは、当該化学走性因子物質膜 14 を構成する化学走性因子物質の単分子層～数分子層の厚みとされ、化学走性因子物質の種類などによって異なるが、通常、 $0.1 \sim 1 \mu\text{m}$ である。

【0027】

遮光板 17 は、その遮光部 17 A が、化学走性因子物質膜 14 の照射対象領域 15 の幅（図 2 において紙面に垂直な方向の長さ）以上の幅を有するものであることが必要とされる。

【0028】

光源としては、化学走性因子物質を、例えば分解して変質させる波長の光を放射するものを用いることができる。

光源に係る波長は、雰囲気酸素を含有する場合においては、220 nm以下、特に200 nm以下であることが好ましく、雰囲気がオゾン含有の場合においては、300 nm以下、特に270 nm以下であることが好ましい。

具体的に、光源としては、エキシマレーザ、エキシマランプ、低圧水銀ランプなどを用いることができるが、波長172 nmに輝線を有するエキシマランプまたは波長185 nmおよび254 nmに輝線を有する低圧水銀ランプを好適に用いることができる。

【0029】

このような第1の手法に係る化学走性機能制御膜の製造方法は、化学走性因子物質膜14に対して光源からの放射光を照射する工程において、化学走性因子物質膜14が、酸素またはオゾンが光源からの放射光に含まれる紫外線に作用することによって発生する活性酸素と接触し、この活性酸素による酸化反応によって灰化（アッシング）され、その結果、当該化学走性因子物質膜14における光源からの放射光が照射された部分の化学走性因子物質濃度が減少することとなるが、この化学走性因子物質膜14の灰化割合が放射光の照射量に依存し、具体的に照射時間と比例関係にあることを利用するものである。すなわち、照射対象領域15に対して、その一端15Aから他端15Bに向かうに従って光源からの放射光の照射時間を次第に小さくして灰化割合を小さくすることにより、当該一端15Aに対応する一端30Aから当該他端15Bに対応する他端30Bに向かうに従って化学走性因子物質濃度が大きくなる濃度勾配を有する化学走性機能制御膜30を容易に形成することができる。

【0030】

また、この化学走性機能制御膜の製造方法においては、遮光板17を一定速度で移動させていることから、照射対象領域14において光源からの放射光の照射量が一定の変化割合で連続して変化することとなるため、得られる化学走性機能制御膜30は化学走性因子物質濃度が一定の割合で連続して変化してなる濃度勾配を有するものとなる。

【0031】

<第2の手法に係る化学走性機能制御膜の製造方法>

先ず、第1の手法に係る化学走性機能制御膜の製造方法と同様の手法により、例えばガラス製の基板上に、薄膜状の化学走性因子物質膜を形成する。

次いで、基板上に形成された化学走性因子物質膜の上方に、光源を配置すると共に、特定のマスクを用意し、化学走性因子物質膜と光源との間に形成される領域の所定の位置に配置する。

この例においては、特定のマスクは、その一端から他端に向かうに従って次第に透過率が大きくなる透光率変化領域を有するものであって、当該透光率変化領域が、化学走性因子物質膜の照射対象領域に対応した大きさを有し、化学走性因子物質膜に平行であって、例えば当該化学走性因子物質膜から $50\ \mu\text{m}$ 離間した位置において、化学走性因子物質膜の照射対象領域全域に対向するよう配置されている。

【0032】

そして、例えば大気中などの酸素またはオゾンを含有する雰囲気中において、光源を、例えば上記の特定のマスクがない状態で測定される放射光の照度が $5\ \text{mW}/\text{cm}^2$ となる条件で点灯状態とし、化学走性因子物質膜の照射対象領域全域に対して一斉に特定のマスクの透光率変化領域を介して光源から放射された光を照射する。

【0033】

このようにして、照射対象領域全域における光源からの放射光の照射時間が均一となる条件下において、特定のマスクを用いて、照射対象領域における、特定のマスクの透光率変化領域の一端に対向する一端から他端に向かうに従って次第に照度を大きくし、当該照射対象領域における光源からの放射光の照射量を、一端から他端に向かう一方向に連続的に大きくなるよう変化させることにより、一端から他端に向かうに従って化学走性因子物質濃度が小さくなる濃度勾配を有する化学走性機能制御膜が形成される。

【0034】

特定のマスクとしては、透光率変化領域において、透光率が一方向に実質的に

連続して変化する照度分布制御マスクを用いることができる。

この照度分布制御マスクには、その一端から他端に向かうに従って透光率が一定の変化割合で変化するマスク、およびその一端から他端に向かうに従って透光率が段階的に変化するマスクが包含される。

ここに、透光率が段階的に変化する照度分布制御マスクにおいては、透光率が変化する透光率変化幅が、得られる化学走性機能制御膜の化学走性因子物質濃度が変化する濃度変化幅と対応することとなるため、この透光率変化幅を、得られる化学走性機能制御膜が細胞に対して制御機能を発揮する濃度変化幅を有するものとなる範囲内に設定する必要がある。

【0035】

具体的に、特定のマスクを構成する照度分布制御マスクとしては、例えば透明基板上に、当該透明基板の一端から他端に向かうに従ってその開口率が大きくなるよう配列された複数の開口を有するパターンの金属蒸着膜が形成されてなるフィルターを用いることができる。このようなフィルターは、例えば特開平7-35921号公報に開示されている手法によって製造することができる。

【0036】

光源としては、第1の製造方法と同様に、エキシマランプまたは低圧水銀ランプを好適に用いることができる。

【0037】

このような第2の手法に係る化学走性機能制御膜の製造方法は、化学走性因子物質膜に対して光源からの放射光を照射する工程において、化学走性因子物質膜が、酸素またはオゾンが光源からの放射光に含まれる紫外線に作用することによって発生する活性酸素と接触し、この活性酸素による酸化反応によって灰化（アッシング）され、その結果、当該化学走性因子物質膜における光源からの放射光が照射された部分の化学走性因子物質濃度が減少することとなるが、この化学走性因子物質膜の灰化量が放射光の照射量に依存し、具体的に照度と比例関係にあることを利用するものである。すなわち、照射対象領域に対して、その一端から他端に向かうに従って光源からの放射光の照度を次第に大きくして灰化割合を大きくすることにより、一端から他端に向かうに従って化学走性因子物質濃度が小

さくなる濃度勾配を有する化学走性機能制御膜を容易に形成することができる。

【0038】

また、この化学走性機能制御膜の製造方法においては、化学走性因子物質膜の照射対象領域全域に対して一斉に光源からの放射光を照射することから、第1の手法に係る化学走性機能制御膜の製造方法に比して化学走性因子物質膜に対して光源からの放射光を照射する工程に要する時間が小さくなる。

【0039】

以上のような化学走性機能制御膜の製造方法によれば、酸素またはオゾンを含む霧囲気中において、化学走性因子物質膜の照射対象領域に対して、その照射量が一方向に連続的に変化するよう光源からの放射光を照射することによって照射対象領域における化学走性因子物質膜が灰化されることにより、この照射対象領域内において、光源からの放射光の照射量が大きくなるに従って化学走性因子物質濃度が小さくなるよう一方向に連続的に変化させることができることから、照射対象領域が微小な大きさであっても、この微小な領域内において、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を容易に得ることができる。

實際上、第1の手法および第2の手法に係る化学走性機能制御膜の製造方法の各々によれば、照射対象領域における光源からの放射光の照射量が変化されるべき一方向の幅が、例えば100 μm の微小な大きさであっても、この微小な領域内において、化学走性因子物質濃度が一方向に変化してなる濃度勾配を有する化学走性機能制御膜を容易に得ることができる。

【0040】

この製造方法によって得られる化学走性機能制御膜は、一方向において実質的に連続して化学走性因子物質濃度が変化してなる濃度勾配を有するものであることから、細胞の活性度の確認用の人工材料の構成要素として好適に用いることができる。

【0041】

本発明の人工材料は、上述の化学走性機能制御膜の製造方法によって得られる化学走性機能制御膜を基板上に有してなるものである。

【0042】

このような構成の人工材料においては、当該人工材料を構成する基板として、前述の化学走性機能制御膜を製造する過程において用いられる基板を用いることができることから、当該化学走性機能制御膜を製造する過程において得られる基板上に化学走性機能制御膜が形成されてなる積層体を、そのままの状態で人工材料として用いることができる。

而して、化学走性機能制御膜を基板上に有してなる構成の人工材料（以下、「化学走性機能制御膜含有人工材料」ともいう。）は、本発明の化学走性機能制御膜の製造方法の手順に従って基板と化学走性機能制御膜との積層体を形成することによって製造することができるが、化学走性機能制御膜含有人工材料の製造方法は、これに限定されるものではなく、下記の手法によっても容易に製造することができる。

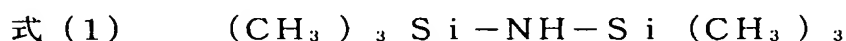
以下、化学走性機能制御膜含有人工材料の製造方法の一例を説明する。

【0043】

例えば図5に示すような表面状態を有するガラス製の基板11の表面（図5において上面）に、例えば下記式（1）で表されるヘキサメチルジシラザン（HMDS）などの化学走性因子物質を付着させる化学走性因子物質付着性能を有する付着性物質液を塗布して乾燥させることにより、図6に示すような表面状態を有する薄膜状の付着性物質膜43を形成する。

【0044】

【化1】



【0045】

基板11上に形成された付着性物質膜43に対して、例えば大気中などの酸素またはオゾンを含む雰囲気中において、例えば放射光の照度が $5\text{ mW}/\text{cm}^2$ となる条件で点灯状態とした光源からの放射光を、その照射量が付着性物質膜43の照射対象領域（この例においては付着性物質膜43の表面全域）において、一方向（図6において左右方向）に連続的に変化するように照射する。

ここに、付着性物質膜 43 の照射対象領域に光源からの放射光を照射する手法としては、本発明の化学走性機能制御膜の製造方法において化学走性因子物質膜の照射対象領域に光源からの放射光を照射する第 1 の手法および第 2 の手法と同様の手法、具体的には下記の (A) および (B) の手法が挙げられる。

【0046】

(A) 付着性物質膜と、当該付着性物質膜の上方に配置された光源との間の領域に遮光板を配置し、この遮光板と付着性物質膜との位置関係を一方向に相対的に変化させながら付着性物質膜の照射対象領域に光源からの放射光を順次照射する手法

(B) 付着性物質膜と、当該付着性物質膜の上方に配置された光源との間の領域に、透光率が一方向に連続的に変化する透光率変化領域を有する特定のマスクを配置し、光源からの放射光を特定のマスクの透光率変化領域を介して付着性物質膜の照射対象領域に照射する手法

【0047】

このような紫外線照射処理によれば、図 7 に示すように、付着性物質膜 43 を構成する付着性物質が、酸素またはオゾンが光源からの放射光に含まれる紫外線の作用によって分解され、その結果、当該付着性物質膜 43 における光源からの放射光が照射された部分の付着性物質濃度が減少することとなるが、この付着性物質濃度の減少割合が放射光の照射量と比例関係にあることから、照射対象領域に対して、その一端（図 7 において右端）から他端（図 7 において左端）に向かうに従って光源からの放射量を次第に小さくすることにより、一端から他端に向かうに従って付着性物質濃度が小さくなる濃度勾配を有する下地処理膜 45（図 8 参照）が形成される。

ここに、得られた下地処理膜 45 においては、付着性物質の化学走性因子物質付着性能は変質されることによって失われるため、付着性物質濃度が大きい他端側部分ほど比例的に化学走性因子物質を付着しやすくなっている。なお、図 7 においては、付着性物質膜 43 の右方部分に存在する付着性物質が変質された状態を示している。

【0048】

そして、基板 11 上に形成された下地処理膜 45 の表面全面に対して化学走性因子物質含有溶液を塗布することにより、図 8 に示すように、下地処理膜 45 における付着性物質濃度の濃度勾配に対応した濃度勾配を有する状態で付着性物質が存在する、具体的には、一端（図 8 において右端）から他端（図 8 において左端）に向かうに従って化学走性因子物質濃度が大きくなる濃度勾配を有する化学走性機能制御膜 30 が形成される。

図 8 において、化学走性機能制御膜 30 は、その表面（図 8 において上面）が傾斜した状態に描かれているが、この表面の傾斜状態は、一端から他端に向かうに従って化学走性因子物質濃度が大きくなっている濃度勾配を便宜上厚みの変化として示すものである。

このようにして、化学走性機能制御膜 30 を基板 11 上に有してなる人工材料が製造される。

なお、化学走性機能制御膜 30 は、前述の化学走性機能制御膜の製造方法によって得られる化学走性機能制御膜と同様の機能を有するものである。

【0049】

光源としては、エキシマランプまたは低圧水銀ランプを好適に用いることができる。

光源に係る波長は、雰囲気酸素を含有する場合においては、220 nm 以下、特に 200 nm 以下であることが好ましく、雰囲気がオゾンを含有する場合においては、300 nm 以下、特に 270 nm 以下であることが好ましい。

【0050】

この人工材料を用いて細胞の活性度を確認する方法としては、例えば図 9 に示すように、人工材料における化学走性機能制御膜の化学走性因子物質濃度の低い方の一端に活性度を確認すべき細胞（以下、「対象細胞」ともいう。）35 を置き、図 10 に示すように、対象細胞 35 が化学走性機能制御膜 30 の化学走性因子物質濃度の高い方に移動し、最終的に化学走性因子物質濃度の高い方の一端に到達するまでの時間を、例えば顕微鏡観察により測定し、この対象細胞 35 の移動距離と移動時間とから算出される対象細胞の移動速度の大きさに基づいてこの対象細胞 35 の活性度を確認する手法が挙げられる。

【0051】

この細胞の活性度の確認する方法に用いる人工材料を構成する化学走性機能制御膜に係る化学走性因子物質は、対象細胞の種類、検査環境条件等に応じて適宜に選択することが必要である。

例えば、対象細胞がバクテリアである場合には、アスパラギン酸を化学走性因子物質とした化学走性機能制御膜を好適に用いることができ、また、対象細胞が細胞性粘菌である場合には、3' , 5' -サイクリック cAMP を化学走性因子物質とした化学走性機能制御膜を用いることができる。

【0052】

このような人工材料を用いた細胞の活性度の確認方法は、例えば癌細胞の転移の研究にも応用することができる可能性がある。

【0053】

以上、本発明について説明したが、本発明においては種々の変更を加えることができる。

例えば、化学走性機能制御膜の製造方法に係る第1の手法においては、化学走性因子物質膜と遮光板との位置関係を相対的に変化させればよいことから、遮光板に代えて化学走性因子物質膜が形成された基板を移動させてもよい。

【0054】

また、化学走性機能制御膜の製造方法に係る第1の手法においては、得られる化学走性機能制御膜の化学走性因子物質濃度が段階的に変化するように、当該化学走性機能制御膜の濃度変化幅が、当該化学走性機能制御膜が細胞に対して制御機能を発揮するものとなる範囲内において、化学走性因子物質膜と遮光板との位置関係を断続的に変化させてもよい。

【0055】

更に、化学走性機能制御膜の製造方法に係る第1の手法および第2の手法においては、化学走性因子物質としてインシュリンを用い、基板としてガラス製のものを用いる場合には、ガラス製の基板の表面に、ガラス表面を疎水化し、インシュリンを付着して固定しやすくさせる作用のあるヘキサメチルジシラザン (HMDS) を塗布し、当該基板の表面を変質させた後にインシュリン膜を形成しても

よい。

【0056】

【発明の効果】

本発明の化学走性機能制御膜の製造方法によれば、酸素またはオゾンを含む雰囲気中において、化学走性因子物質膜の照射対象領域に対して、その照射量が一方向に連続的に変化するよう光源からの放射光を照射して当該照射対象領域における化学走性因子物質膜を変質させることにより、この照射対象領域内において、光源からの放射光の照射量が変化されてなる一方向に、当該照射量に基づいて実質的に連続して化学走性因子物質濃度を変化させることができることから、照射対象領域が微小な大きさであっても、この微小な領域内において、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を容易に得ることができる。

【0057】

本発明の人工材料は、上記の製造方法によって得られる微小な領域内においても、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を基板上に有してなるものであり、この人工材料を用いて細胞の移動速度を測定することにより、細胞の活性度を確認することができる。

【0058】

本発明の人工材料の製造方法によれば、酸素またはオゾンを含む雰囲気中において、基板の表面に形成された付着性物質膜の照射対象領域に対して、その照射量が一方向に連続的に変化するよう光源からの放射光を照射して当該照射対象領域における付着性物質を変質させることにより、この照射対象領域内において、光源からの放射光の照射量が変化されてなる一方向に、当該照射量に基づいて実質的に連続して付着性物質濃度が変化してなる下地処理膜を得ることができると共に、この下地処理膜の表面に化学走性因子物質含有溶液を塗布することにより、下地処理膜における付着性物質濃度の変化状態に対応する変化状態で化学因子物質濃度が変化されてなる薄膜を形成することができることから、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を容易に得ることができる。

【図面の簡単な説明】**【図 1】**

基板上に化学走性因子物質膜が形成された状態を示す説明図である。

【図 2】

基板上に形成された化学走性因子物質膜と光源との間の領域に遮光板を所定の位置に配置した状態を示す説明図である。

【図 3】

基板上に形成された化学走性因子物質膜の照射対象領域に対して光源からの放射光を照射している状態を示す説明図である。

【図 4】

基板上に形成された本発明の化学走性機能制御膜を、遮光板と共に示す説明図である。

【図 5】

ガラス製の基板の表面状態を示す説明用模式図である。

【図 6】

ガラス製の基板上に形成されたヘキサメチルジシラザンよりなる付着性物質膜の状態を示す説明用模式図である。

【図 7】

ヘキサメチルジシラザンよりなる付着性物質膜が光源からの放射光が照射されることによって当該付着性物質膜を構成する付着性物質が変質されている状態を示す説明用模式図である。

【図 8】

ガラス製の基板上に化学走性機能制御膜が形成されてなる構成の本発明の人工材料を示す説明用模式図である。

【図 9】

本発明の人工材料における基板上に形成された化学走性機能制御膜の一端に細胞を放した状態を示す説明図である。

【図 10】

本発明の人工材料における基板上に形成された化学走性機能制御膜において細

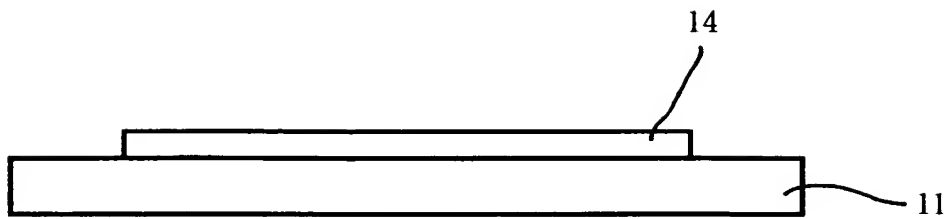
胞が移動している状態を示す説明図である。

【符号の説明】

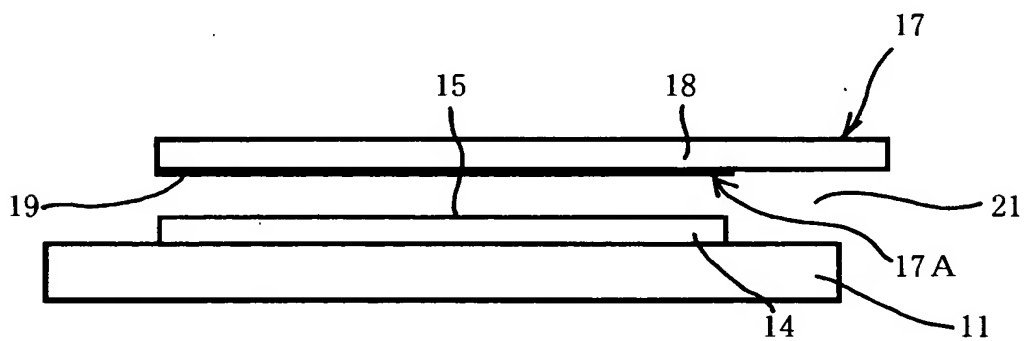
- 1 1 基板
- 1 4 化学走性因子物質膜
- 1 5 照射対象領域
- 1 5 A 一端
- 1 5 B 他端
- 1 7 遮光板
- 1 7 A 遮光部
- 1 8 基板
- 1 9 クロム蒸着膜
- 2 1 領域
- 3 0 化学走性機能制御膜
- 3 0 A 一端
- 3 0 B 他端
- 3 5 細胞
- 4 3 付着性物質膜
- 4 5 下地処理膜

【書類名】 図面

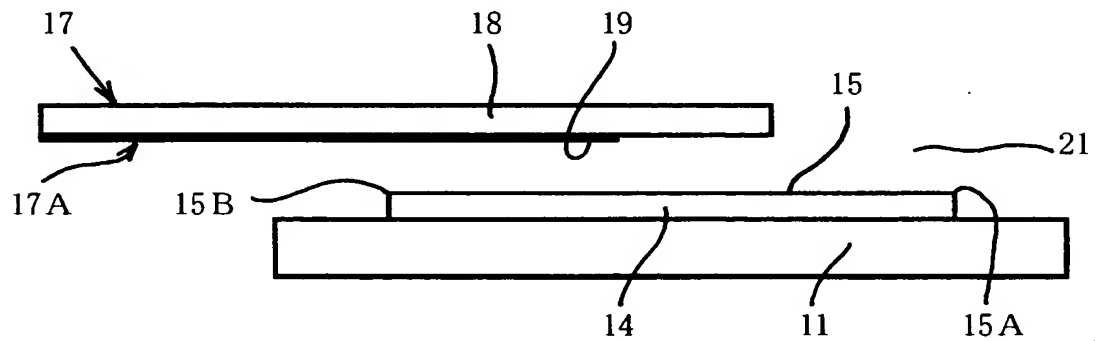
【図 1】



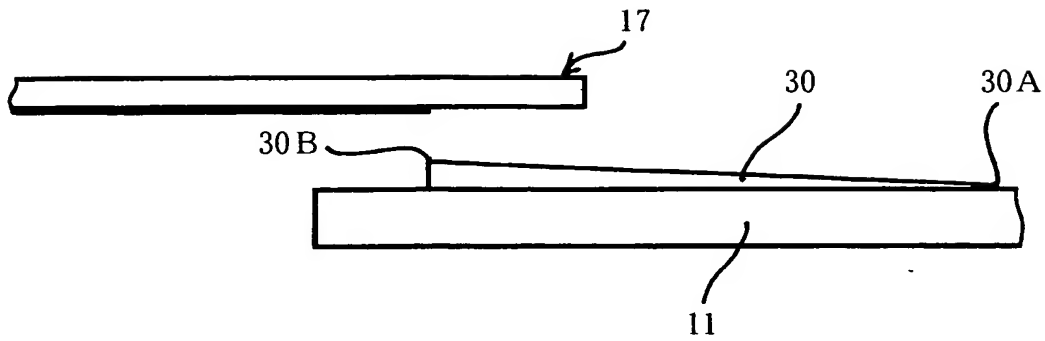
【図 2】



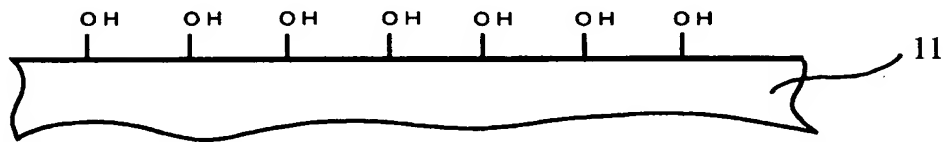
【図 3】



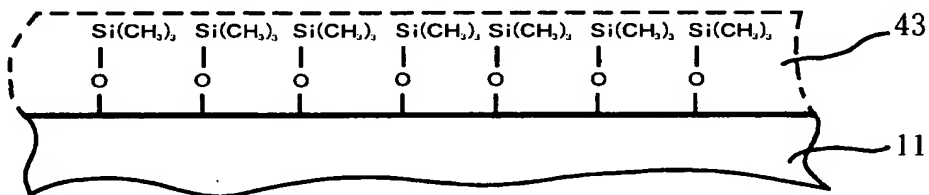
【図 4】



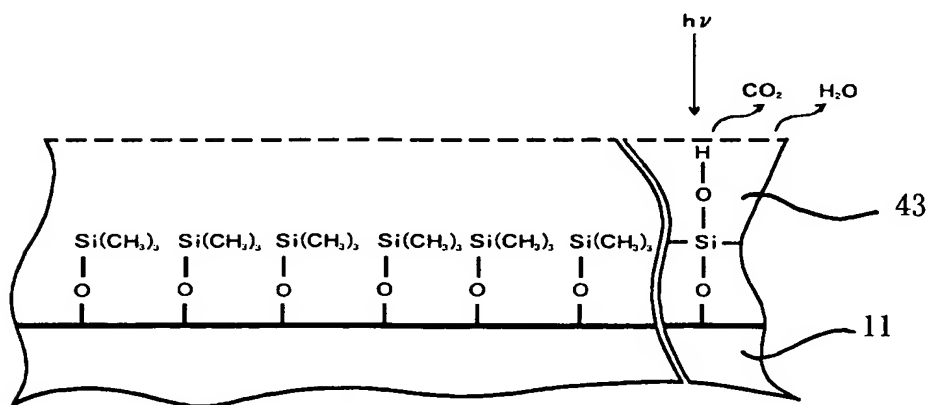
【図 5】



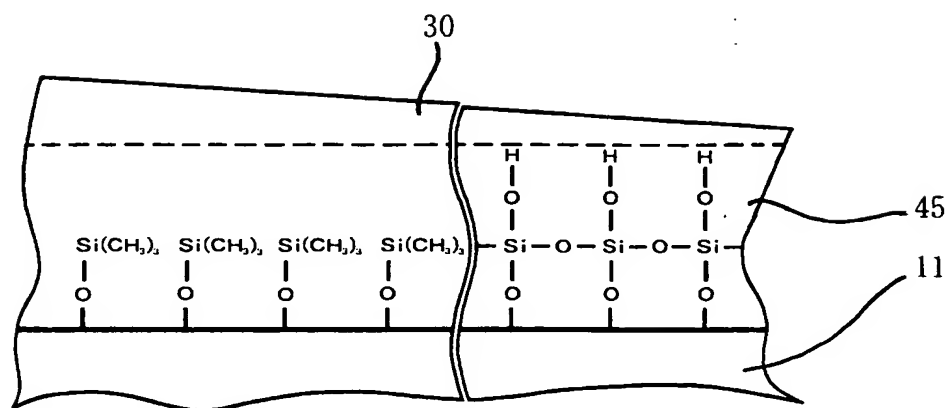
【図 6】



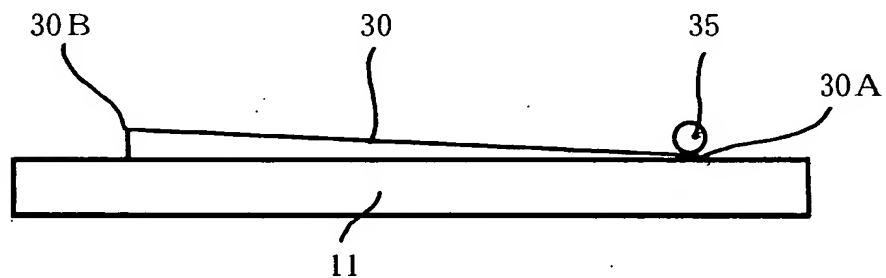
【図 7】



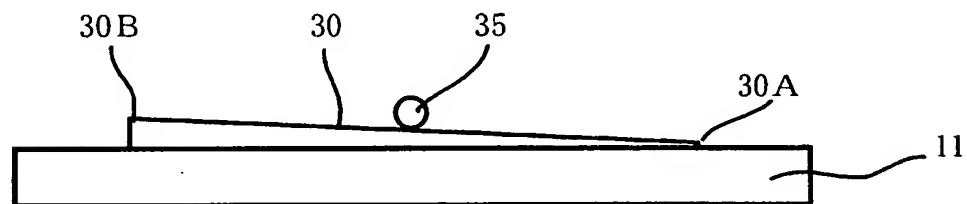
【図 8】



【図 9】



【図 10】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 微小な領域内においても、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を製造する方法および微小な領域内においても、化学走性因子物質が一方向において濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を基板上に有してなる構成の人工材料並びに人工材料の製造方法の提供。

【解決手段】 化学走性機能制御膜の製造方法は、酸素またはオゾンを含む雰囲気中において、化学走性因子物質膜に対して、光源からの放射光を、その照射量が化学走性因子物質膜の照射対象領域において一方向に連続的に変化するよう照射して化学走性因子物質を変質させることにより、光源からの放射光の照射量が変化されてなる一方向において、化学走性因子物質が当該照射量に基づいた濃度勾配を有する状態で存在する化学走性機能制御膜を得、人工材料は、上記製造方法によって得られる化学走性機能制御膜を基板上に有してなる。

【選択図】 なし

特願 2 0 0 3 - 0 7 8 0 5 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 1 0 2 2 1 2]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 3 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都千代田区大手町 2 丁目 6 番 1 号 朝日東海ビル 1 9 階

氏 名

ウシオ電機株式会社